
Actividades enzimáticas en suelos de los altos llanos centrales (estado Guárico)

Enzymatic activities in soils of the Central High Plains (Guárico State)

Jorge E. Paolini

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Centro de Ecología,
Apartado postal 21827, Caracas 1020-A (Venezuela) e-mail: jpaolini@ivic.ve

RESUMEN

En el ciclaje de nutrientes en el suelo participan un sinnúmero de enzimas, las cuales transforman los nutrientes unidos en formas orgánicas a formas inorgánicas disponibles a las plantas.

Las enzimas principalmente son de origen microbiano aunque también pueden derivarse de los restos de animales y vegetales. En el suelo se encuentran en diferentes estados; variando desde asociadas a los organismos vivientes (endoenzimas) hasta inmovilizadas en forma de complejos con las arcillas y las sustancias húmicas (exoenzimas o abióticas). Debido a su origen microbiano, las actividades enzimáticas pueden ser usadas como indicadores o biosensores para detectar cambios tempranos en la biología y bioquímica del suelo causados por ejemplo por diferentes formas de manejo (adición de

ABSTRACT

The nutrient cycling in soils is mediated by biochemical reactions. Enzymes in soil catalyze biochemical reactions, and thereby mediate the transformation of organically bound nutrients into inorganic plant available forms. The soil enzymes mainly are of microbial origin although they can also be derived from plants and animals residues. In the soil, they can exist in several stages, ranging from those associated with living organisms (endoenzymes) to those immobilized in clays minerals and humic complexes (extracellular enzymes or abiotic).

Because of their microbial origin, the enzyme activities may serve as useful indicators or biosensors to detect early changes in the soil biology and biochemistry caused for example by different management practices (addition of fertilizers and

fertilizantes y plaguicidas, labranza, rotación de cultivos) y por factores ambientales.

En el presente trabajo se estudiaron las actividades enzimáticas de suelos bajo condiciones naturales del Alto Llano Central de Venezuela. Las enzimas escogidas estaban relacionadas con el ciclo del nitrógeno (ureasa y proteasa), del fósforo (fosfomonoesterasas) y la actividad biológica (deshidrogenasa).

Los suelos bajo vegetación boscosa mostraron mayores actividades en las enzimas fosfomonoesterasa ácida, proteasa y deshidrogenasa al compararse con los suelos de vegetación natural de sabana, lo cual está asociado a una mayor fertilidad natural de los mismos. Algunas de las características químicas (C_{org} , N_{total} , conductividad y calcio intercambiable) correlacionan significativamente con las actividades enzimáticas.

Palabras claves: suelo, enzimas, bioquímica, sabana, Llanos

pesticides, tillage, crop rotations, etc.) and for environmental factors.

In the present work, the enzyme activities were studied in soils under natural conditions of the High Central Plains of Venezuela. The selected enzymes were related with the cycle of nitrogen (urease and protease), of phosphorus (acid phosphomonoesterase) and the oxidation of organic matter and biological activity (dehydrogenase).

The soil under forest vegetation showed the higher activities in the acid phosphomonoesterase, protease and deshydrogenase compared with the counterparts of natural savannas. This can be related to a better fertility status.

Some chemical characteristics (C_{org} , N_{total} , conductivity and exchangeable calcium) were significantly correlated to some enzymatic activities.

Key words: soil, enzymes, biochemistry, savannas, Plains

INTRODUCCIÓN

Dentro de las transformaciones biológicas que tienen lugar en el suelo se sabe que las enzimas, y la actividad que éstas desarrollan juegan un papel relevante (Burns, 1978).

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores orgánicos, transformando sustancias orgánicas e inorgánicas sin experimentar cambios en sí. Ellas disminuyen la energía de activación de las reacciones bioquímicas y permiten que las mismas se produzcan a temperaturas y presiones a las que normalmente no tendrían lugar.

Una parte de las enzimas del suelo son sin duda extracelulares siendo liberadas durante el metabolismo y muerte celular; otras son intracelulares, formando parte de la biomasa microbiana. También existen enzimas inmovilizadas que son las que pueden mantener un nivel constante y estable de la actividad enzimática en el suelo, independiente de la proliferación microbiana y de las formas usuales de regulación de la síntesis y secreción de enzimas. Este tipo de enzimas inmovilizadas pueden permanecer unidas a coloides minerales (arcillas) u orgánicos (sustancias húmicas) siendo muy resistentes a los procesos de desnaturalización.

Nannipieri *et al.* (1990) indicaron que las actividades enzimáticas son específicas de un sustrato y están relacionadas con reacciones específicas. Por ello es difícil inferir, mediante un solo valor de actividad enzimática, el conocimiento del estado general de nutrientes de un suelo o determinar la actividad microbiana del mismo. Sin embargo, las mediciones simultáneas de varias enzimas sí pueden resultar útiles como marcadores de bioactividad y pueden utilizarse como índices de fertilidad bioquímica de los suelos (Gil Sotres *et al.*, 1992).

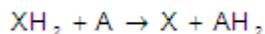
De las enzimas determinadas en suelos, las hidrolasas son las más estudiadas, si bien también lo han sido otros grupos entre las que podemos citar a las oxidoreductasas, liasas y transferasas. Muchas de ellas están relacionadas a los ciclos de elementos tan importantes como el carbono (celulasas, β -glucosidasa), nitrógeno (ureasa y proteasa), fósforo (fosfatasa) y azufre (arilsulfatasa).

Las determinaciones de actividades enzimáticas han sido utilizadas con diferentes propósitos en los estudios realizados sobre el tema: como indicadores de la productividad, como medida indirecta de la biomasa microbiana, para comparar los efectos de la rizósfera, como índice potencial del suelo para descomponer distintos materiales orgánicos (por ejemplo composts, residuos orgánicos, lodos activados, etc.), como indicadores de posible contaminación con metales pesados o plaguicidas, etc. (Burns, 1982; Dick, 1992; Dick y Tabatabai, 1993).

A continuación se discuten algunas de las características de las enzimas estudiadas en este trabajo:

Actividad de la deshidrogenasa

Se considera que la actividad deshidrogenasa se produce de manera intracelular y que esta asociada a los procesos respiratorios de los microorganismos, por ello se estima que es más dependiente del estado metabólico y de la actividad biológica general que cualquiera de las demás enzimas presentes en el suelo. De esta manera ha sido utilizada como un indicador de la actividad microbiana del suelo (Nannipieri et al., 1990). La medida de esta actividad enzimática en el suelo comprende distintos sistemas de deshidrogenasas, involucradas en la oxidación biológica de compuestos orgánicos mediante procesos de deshidrogenación, representadas por la siguiente reacción:



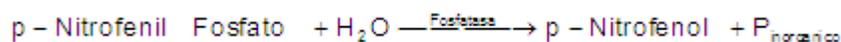
Donde XH_2 es un compuesto orgánico (donador de hidrógenos) y A es un aceptor de hidrógenos.

Este tipo de reacciones supone la existencia de un aceptor de electrones que en nuestro caso, es una sal de tetrazolio (CTT, cloruro de trifeniltetrazolio) la cual será reducida a la correspondiente sal de formazan coloreada e insoluble en agua, y después se extraerá con un disolvente orgánico (por ej. metanol). La medida colorimétrica de la cantidad de sustrato transformado en trifenilformazan cuantificará la actividad deshidrogenásica.

Actividad de las fosfatasas

La disponibilidad del fósforo para los cultivos depende, en gran parte de la mineralización que experimenten las diferentes fracciones orgánicas, por lo que las enzimas fosfatasas del suelo tendrán un papel importante en las reacciones que tengan lugar en dicho proceso. Las fosfatasas son enzimas inducibles y la intensidad de su excreción por las raíces de las plantas y los microorganismos, obviamente está determinada por los requerimientos de fosfatos. En general, los cambios producidos sobre estas enzimas por la aplicación de fertilizantes se deben a un aumento de los microorganismos del suelo y a un mayor desarrollo de la planta, lo que conlleva un incremento de la materia orgánica y de la actividad enzimática (Speir y Ross, 1978).

La determinación de la actividad de la fosfatasa en los suelos se realiza con sustratos artificiales de hidrólisis rápida; como el p-nitrofenolfosfato (p-NFF), el cual se hidroliza a p-nitrofenol (p-NF) desarrollando un color amarillo en medio básico susceptible a la determinación colorimétrica (Tabatabai, 1994), tal como se describe en la siguiente reacción:

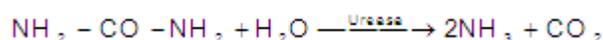


Las fosfatasas poseen dos intervalos óptimos de pH para realizar su actividad catalítica y habitualmente se refieren a fosfatasas ácidas y fosfatasas alcalinas. Tabatabai (1994) indica que la fosfatasa ácida es producida por bacterias, hongos y actinomicetos, así como por las raíces de las plantas. Sin embargo, estas últimas no producen fosfatasas alcalinas, siendo totalmente de origen microbiano.

Actividad de la ureasa

La enzima ureasa cataliza la reacción de hidrólisis de la urea a amonio y dióxido de carbono, y se encuentra presente en plantas superiores y en los microorganismos (particularmente las bacterias). Bajo el nombre común de ureasas se aglutinan numerosas amidohidrolasas e hidrolasas que actúa sobre enlaces C-N (no peptídico) de amidas lineales.

La reacción catalizada por esta enzima puede ser representada por la siguiente reacción:



MATERIALES Y MÉTODOS

Dos toposecuencias contiguas de suelos fueron seleccionadas en el área de Calabozo (Edo. Guárico) (Cuadro 1). La selección de los suelos se llevó a cabo de acuerdo al tipo de vegetación predominante (sabana o bosque); información detallada puede ser consultada en Montes y San José (1995).

Las muestras de suelos fueron colectadas a una profundidad de 0–5 cm con una pala en diez puntos situados al azar y luego se combinaron en una sola. Posteriormente fueron secadas al aire en el laboratorio y tamizadas por malla de 2mm.

Las propiedades químicas de los suelos fueron determinadas por los métodos clásicos de análisis descritos a continuación brevemente: el pH y la conductividad eléctrica en agua a una relación suelo:solución 1:2,5 usando un electrodo de vidrio y un conductímetro, respectivamente; el carbono orgánico total por digestión húmeda con dicromato de potasio en medio de ácido sulfúrico y medición del cromo reducido por espectrofotometría; el nitrógeno total por el método de Kjeldahl en un aparato semimicro; el fósforo total por oxidación con mezcla nítrico: perclórica y medición del ortofosfato por el método del azul de molibdeno por espectrofotometría; los cationes cambiabiles por extracción con acetato de amonio neutral 1N y determinación de los cationes (Ca, Mg, Na y K) por absorción atómica y el aluminio e hidrógeno intercambiable por extracción con cloruro de potasio 1N y titulación con base.

Los ensayos enzimáticos de acuerdo a las metodologías descritas por Tabatabai (1994) y Ladd y Butler (1972).

A las propiedades químicas de los suelos y las actividades enzimáticas se les realizó un análisis de componentes principales con rotación Varimax con el objeto de determinar la factibilidad de utilizar estas últimas como parámetros indicadores de la actividad biológica de los suelos del Alto Llano Central de Venezuela.

Cuadro 1: Formas de Paisaje, clasificación y tipo de vegetación de los suelos estudiados

Paisaje / Toposecuencia	Clasificación de suelos	Vegetación	Siglas
Mesa disectada de Calabozo	Haplustox	Sabana nativa	CAL1
	Haplustox	Sabana nativa	CAL2
	Haplustox	Bosque semideciduo	MAT
Planicie Aluvial del Río Orituco	Haplustalf	Bosque de galería mixto	BGAL
	Chromuster	Palmar	PAL
	Tropaquult	Sabana inundable	BAJ
	Haplustox	Sabana	BEC1
	Haplustox	Sabana	BEC2

RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos de las propiedades químicas se muestran en el Cuadro 2.

Todos los suelos presentan un pH ácido entre 4,8 y 5,7. El contenido de carbono orgánico varió de 0,48% a 1,68 % y nitrógeno total de 0,05 a 0,23 %. Los valores más altos corresponden al suelo de la comunidad boscosa de la Mesa disectada de Calabozo (MAT) y los más bajos a las sabanas dominadas por las especies de *Axonopus* y *Trachypogon* (CAL1 y CAL2). En todos los suelos, los cationes intercambiables fueron extremadamente bajos y por debajo de los niveles críticos para muchos cultivos. El bajo status de nutrientes de los suelos, junto con otras condiciones desfavorables como el fuego y la distribución estacional de la precipitación, limitan la productividad vegetal y hacen las sabanas

inadecuadas para los cultivos y en la mayoría de los casos su uso está restringido para la ganadería extensiva pero con una baja carga animal de apenas 0,1 UA ha⁻¹ en promedio.

Cuadro 2: Propiedades químicas de los suelos

Suelo	pH	C	Nt	Pt	CE	Ca	Mg	Na	K	Al	H
		(%)	(%)	mg kg ⁻¹	μS cm ⁻¹	cmol kg ⁻¹					
CAL1	5,55	0,52	0,050	86	13	0,58	0,40	0,01	0,02	0,10	0,10
CAL2	5,20	0,48	0,049	121	13	0,61	0,45	0,02	0,07	0,15	0,01
MAT	5,70	1,68	0,230	108	74	5,09	1,49	0,02	0,27	0,06	0,00
BGA	4,82	0,99	0,108	256	21	0,81	1,01	0,03	0,03	0,64	0,24
PAL	5,60	1,35	0,147	92	14	1,25	3,37	0,23	0,12	0,71	0,43
BAJ	4,85	1,08	0,130	117	15	1,03	2,73	0,23	0,15	4,48	1,16
BEC1	4,85	1,00	0,108	53	14	0,21	0,15	0,02	0,03	1,09	0,61
BEC2	4,65	1,35	0,142	74	14	0,24	0,21	0,02	0,02	1,75	1,15

CE = conductividad eléctrica

En el Cuadro 3 se muestran los valores de las actividades enzimáticas de los suelos estudiados. Los valores obtenidos en este estudio son bastante similares a los encontrados por otros autores para suelos naturales o agrícolas.

Los suelos estudiados presentan diferencias, la mayor variación fue para la ureasa (max/min = 17,2) y la menor para la fosfomonoesterasa ácida (max/min = 5,3). El suelo bajo el bosque de la Mesa disectada de Calabozo (MAT) mostró los valores más altos de fosfomonoesterasa ácida, proteasa y deshidrogenasa coincidente con el hecho de que este suelo presenta una mejor condición de fertilidad que los otros.

Cuadro 3: Actividades enzimáticas de los suelos estudiados.

Suelo	Deshidrogenasa	Ureasa	Fosfatasa ácida	Proteasa
	μg TFF g ⁻¹ 24 h ⁻¹	μg N-NH ₄ g ⁻¹ h ⁻¹	μg p-NF g ⁻¹ h ⁻¹	μg tirosina g ⁻¹ h ⁻¹
CAL 1	252	8	103	5
CAL 2	427	16	177	9
MAT	618	16	545	55
BGAL	270	7	197	14
PAL	195	86	258	15
BAJIO	47	8	179	16
BEC 1	193	5	248	10
BEC 2	254	19	390	19

La actividad de la deshidrogenasa (DH) en los suelos estudiados varía de 47 a 618 μg TFF g⁻¹ suelo 24 h⁻¹ (media 282). El suelo bajo vegetación de bosque en la Mesa disectada de Calabozo (MAT) presenta la actividad más alta, en cambio en el suelo de bajío o sabana estacional inundable (BAJ) la más baja. Este último suelo muestra los valores más altos de aluminio e hidrógeno intercambiable.

Los niveles de actividad DH en los suelos de Venezuela son comparables a los encontrados por Kulinska *et al.* (1982) y Baligar *et al.* (1999) en suelos del cerrado brasileño con una vegetación similar a la de Los Llanos y en otros países tropicales como India (Bopaiah y Shekara, 1991; Sethi *et al.*, 1990) y Costa de Marfil (Bauzon *et al.*, 1977).

La actividad deshidrogenásica correlaciona significativamente con la conductividad ($r = 0,78$), el calcio intercambiable ($r = 0,72$), la actividad proteásica ($r = 0,69$) e inversamente con el aluminio ($r = - 0,69$) y el hidrógeno intercambiable ($r = - 0,70$).

Los niveles de la fosfomonoesterasa ácida de los suelos de las toposecuencias son comparables a los observados en otros tipos de suelos. El valor más alto fue encontrado para el suelo de mata bajo vegetación de bosque (MAT) y el más bajo corresponde a un suelo bajo vegetación típica de sabana (CAL1).

Así por ejemplo, en Venezuela para suelos de sabana Paolini y España (1998) encuentran valores comprendidos entre 72 y 160 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} ; López-Hernández *et al.* (1989) entre 78 y 323 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} también para suelos de sabana; Contreras *et al.* (1996) obtienen para suelos agrícolas degradados enmendados con abonos verdes bajo mínima labranza valores comprendidos entre 53 y 89 $\mu\text{g p-NfFg}^{-1}$ suelo h^{-1} . En Brasil para suelos del Cerrado Kulinska *et al.* (1982) reportan valores entre 181 y 905 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} ; Baligar *et al.* (1999) entre 55 y 289 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} y Rentz *et al.* (1999) entre 343 y 549 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} para suelos naturales de sabana y entre 245 y 947 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} para suelos sometidos a diferentes manejos (cultivos, reforestación, pastizales). Oberson *et al.* (2001) trabajando con suelos de los Llanos Orientales de Colombia reporta para suelos de sabana natural de 270 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} y para suelos cultivados con arroz de forma continua de 145 $\mu\text{g p-NF g}^{-1}$ suelo h^{-1} .

La actividad de la fosfomonoesterasa ácida correlaciona significativamente con el carbono orgánico ($r = 0,86$), el nitrógeno total ($r = 0,89$), la conductividad ($r = 0,80$), el calcio intercambiable ($r = 0,74$) y la actividad proteásica ($r = 0,90$).

Los valores de la actividad ureásica varían entre 5 y 86 $\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1}$ (media 21), la actividad más alta fue observada para el suelo de palmar y la más baja para el suelo de sabana de la Mesa disectada de Becerra (BC1). A excepción del valor más alto, los valores observados coinciden con los reportados para suelos de sabana en otras áreas tropicales (Bauzon *et al.*, 1977; Kulinska *et al.*, 1982 y Baligar *et al.*, 1999). La actividad de la ureasa no mostró ninguna correlación ni con los parámetros químicos ni con ninguna otra enzima.

Los niveles de la enzima proteasa varían de 5 a 55 $\mu\text{g tirosina g}^{-1}$ suelo h^{-1} (media 18). El valor más alto se observó en el suelo de mata bajo vegetación de bosque en la mesa disectada de Calabozo (MAT). A diferencia de las otras enzimas estudiadas, la disponibilidad de datos sobre suelos tropicales no es tan abundante; sin embargo, los valores observados son también similares a los encontrados por otros autores en suelos de las zonas templadas (Klein y Koths, 1980; Ross y McNeilly, 1975).

La proteasa mostró una fuerte correlación con el carbono orgánico ($r = 0,78$), el nitrógeno total ($r = 0,89$), la conductividad ($r = 0,96$) y el calcio intercambiable ($r = 0,95$) al igual que la fosfomonoesterasa ácida y adicionalmente con el potasio intercambiable ($r = 0,85$).

El análisis de componentes principales con rotación Varimax determinó que tres componentes principales expresaban el 85 % de la varianza total de los datos. El primer componente principal explica un 49,7 % de la varianza total de los datos y está asociado a la fertilidad química y biológica del suelo dado que entre los parámetros que tuvieron las más altas saturaciones se incluye al carbono orgánico, nitrógeno total, conductividad, calcio, potasio y las actividades de la fosfomonoesterasa ácida y la proteasa. El segundo componente explica un 21,9 % de la varianza total y representado por la acidez del suelo ya que se encuentra asociado al pH, el hidrógeno intercambiable y el aluminio intercambiable.

La actividad deshidrogenásica tiene, también una alta saturación.

El tercer componente incluye un 13,5 % de las variables originales y muestra una alta saturación en el magnesio intercambiable, el sodio intercambiable y la actividad ureásica. El cuarto componente contiene apenas un 8,5% de la varianza total y se correlaciona con el fósforo total.

CONCLUSIONES

- ✓ Las actividades enzimáticas de las dos toposecuencias en el Alto Llano Central de Venezuela son semejantes a las reportadas anteriormente para suelos bajo vegetación natural y suelos agrícolas.
- ✓ Los suelos bajo vegetación de sabana presentan los valores más bajos, comparados con su contraparte de vegetación boscosa.
- ✓ Algunas características químicas correlacionaron significativamente con las actividades enzimáticas.

LITERATURA CITADA

- Baligar, V.C., R.J. Wright, N.K. Fagenia y G.V.E. Piha.** 1999. Enzyme activities in Cerrado soils of Brazil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30: 1551-1560.
- Bauzon, D., A.M. Aubry, R. Van den Driessche y Y. Dommergues.** 1977. Contribution á la connaissance de la biologie des sols de la savane de Lamto, Côte d'Ivoire *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 14: 343-361.
- Bopaiah, B.M. y H. Shekara Shetty.** 1991. Soil microflora and biological activities in the rhizospheres and root regions of coconut based multistoreyed cropping and coconut monocropping system. *Soil Biol. Biochem.* 23: 89-94.
- Bremner, J.M. y R.L. Mulvaney.** 1978 Urease activity in soils. En: *Soil Enzymes*. Burns, R.G. (Ed.), Academic Press, New York. pp. 149-196.
- Burns, R.G.** 1978. Enzyme activity in soil. Some theoretical and practical considerations. En: *Soil enzymes*, Burns R.G. (Ed.), Academic Press, New York. pp. 295-340.
- Burns, R.G.** 1982. Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.* 14: 423-427.
- Contreras, F., C. Rivero y J. Paolini.** 1996. Efecto del uso de residuos orgánicos y dos tipos de labranza sobre la actividad de la fosfatasa ácida de un Alfisol. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 22: 139-149.
- Dick, R.P.** 1992. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agric. Ecosys. Environ.* 40: 25-36.
- Dick, W.A. y M.A. Tabatabai.** 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. En: *Soil Microbial Ecology. Applications in agricultural and environmental management*. Blaine, F. (Ed.) Marcel Dekker, New York. pp. 95-127.
- Gil Sotres, F., M.C. Trasar-Cepeda, C. Ciardi y B. Ceccanti.** 1992. Biochemical characterization of biological activity in very young mine soils. *Biol. Fertil. Soils* 13: 25-30.
- Klein, T.M. y J.S. Koths.** 1980. Urease, protease and acid phosphatase in soil continuously cropped to corn by conventional or no-tillage methods. *Soil Biol. Biochem.* 12: 293-294.
- Kulinska, D., V.L.L. Camargo y A. Drozdowicz.** 1982. Enzyme activities in "Cerrado" soils in Brazil. *Pedobiologia* 24: 101-107.
- Ladd, J.N. y J.H.A. Butler.** 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.* 4: 19-30.
- López-Hernández, D., M. Niño, P. Nannipieri y J.C. Fardeau.** 1989. Phosphatase activity in Nasutitermes ephrate termite nests. *Biol. Fertil. Soils* 7: 134-137.
- Montes, R. y J.J. San Jose.** 1995. Vegetation and soil analysis of toposequences in the Orinoco Llanos. *Flora* 190: 1-33.

- Nannipieri, P., F. Pedrazzini, P.G. Arcara y P. Piovaneli.** 1979. Changes in amino acids, enzyme activities, and biomasses during soil microbial growth. *Soil Sci.* 127: 26-34.
- Nannipieri, P., S. Grego y B. Ceccanti.** 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. En: *Soil Biochemistry*, Vol. 6. Bollag J-M. and G. Stotzky (Eds.), Marcel Dekker, New York. Pp. 293-355.
- Oberson, A., D.K. Friesen, I.M. Rao, S. Buehler y E. Frosard.** 2001. Phosphorus transformations in an oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant Soil* 237: 197-210.
- Paolini, J. y M. España.** 1998. Phosphatase activity in savanna soils. Proceedings of the 16th World Congress of Soil Science. Montpellier (France), August 1998.
- Rentz, T.E., H. Neufeldt, M.A. Ayarza, J.E. da Silva y W. Zech.** 1999. Acid monophosphatase: an indicator of phosphorus mineralization or of microbial activity ? A case study from the Brazilian Cerrados. En: *Sustainable land management for the Oxisols of the Latin America savannas*. R. Thomas y M.A. Ayarza (Eds.), Centro Internacional de agricultura tropical, Cali (Colombia). pp. 173-197.
- Ross, D.J. y B.A. McNeilly.** 1975. Studies of a climosequence of soils in tussock grasslands. 3. Nitrogen mineralization and protease activity. *New Zealand J. Sci.* 18: 361-375.
- Sethi, V., A. Kaushik y R. Khatri.** 1990. Soil dehydrogenase activity and nitrifier populations in relation to different soil-plant associations. *Trop. Ecol.* 31: 112-117.
- Speir, T.W. y D.J. Ross.** 1978. Soil phosphatase and sulphatase. In: *Soil enzymes* (Burns, R.G., Ed.) Academic Press, New York. Pp. 176-250.
- Tabatabai, M.A.** 1994. Soil enzymes. En: *Methods of soil analysis. Part. 2 Microbiological and biochemical properties*. Mickelson S.H. y J.M. Bigham (Eds.) SSSA Book Series, no. 5, Madison, WI. pp. 775-833.